



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Preservation of interhemispheric cortical connections through corpus callosum following intravenous infusion of mesenchymal stem cells in a rat model of cerebral infarction (ラット脳梗塞モデルに対する骨髄間葉系幹細胞の経静脈的移植後に惹起される脳梁を介する大脳半球間皮質連絡の保護)
Author(s) 著 者	長濱, 宏史
Degree number 学位記番号	甲第 3018 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2018-03-31
Original Article 原著論文	札幌医学雑誌 第 87 巻 第 1 号 (平成 31 年 3 月) 掲載予定
Doc URL	
DOI	
Resource Version	Author Edition

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 3018 号	氏 名	長濱 宏史
<p>論文題名</p> <p>Preservation of interhemispheric cortical connections through corpus callosum following intravenous infusion of mesenchymal stem cells in a rat model of cerebral infarction</p> <p>ラット脳梗塞モデルに対する骨髄間葉系幹細胞の経静脈的移植後に惹起される脳梁を介する大脳半球間皮質連絡の保護</p> <p>研究目的</p> <p>脳梗塞によって運動野が障害されると、大脳半球間皮質連絡が障害されることにより、両側運動野を結ぶ脳梁を介する白質線維の損傷が生ずる。これは、運動機能の障害に関わっていることが知られている。我々は、これまでに実験的脳梗塞モデルに対する骨髄間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells; MSCs)の経静脈的移植により、運動機能が改善することを報告してきた。MSC 移植による治療効果のメカニズムには、神経栄養因子を介した神経保護作用、血液脳関門の安定化、損傷軸索の再生、再有髄化、神経可塑性の亢進などがあることが判明している。</p> <p>本研究は、実験的脳梗塞モデルに対して、MSC を経静脈的に移植した後に生ずる大脳半球間皮質連絡の解剖学的修復を GFP 発現 Adeno-associated virus (GFP-AAV)による神経解剖学的追跡法と Ex vivo diffusion tensor imaging (DTI)によって解析し、運動機能の回復に貢献する新たなメカニズムを探索することを目的とした。</p> <p>研究方法</p> <p>ラットの中大脳動脈を 90 分間閉塞させ再灌流モデル(MCAO)を作成した。再灌流 2 時間後に MSC 群には MSCs(1.0×10^6 個/1ml)を、対象群には培養液 1ml を、それぞれ経静脈的に投与した。MSC 移植後より、行動学的評価、T2 強調画像の撮像を経時的に行った。さらに、病側皮質周囲に GFP-AAV(4.0×10^{10} genome copy/μl, 0.5 μl/site)を注入し、共焦点顕微鏡にて、GFP-AAV により追跡された神経細胞および軸索を観察した。また、脳の Ex vivo DTI を撮像し、Tractography を作成した。さらに、健常側運動野皮質のシナプス変化を免疫組織学的に解析した。また、T2 強調画像および組織切片により、脳梁厚の計測を行った。</p>			

研究成績

MSC 群が対象群に比し、MSC 移植 7 日目以降において、脳梗塞部位の体積が有意に減少していた。また、MSC 移植後 4 日目以降において、運動機能の有意な改善が見られた。DTI Tractography により描出された神経線維数(track)は MSC 群が対象群より多く描出された。共焦点顕微鏡による解析では、両群の GFP-AAV の蛍光強度は注入側である病側皮質にて同等であったが、脳梁の軸索および対側運動野皮質の蛍光強度は、MSC 群がより高強度であった。対側皮質第 5 層の GFP 陽性神経細胞数は MSC 群で有意に多く、第 5 層より伸長する第 2・3 層の GFP 陽性樹状突起数も有意に多かった。さらに、免疫組織学的解析により、対側皮質第 2・3 層および第 5 層のシナプス密度が MSC 群で有意に高いことが判明した。また、T2 強調画像および Nissl 染色を行なった組織切片から計測した脳梁厚は MSC 群で有意に厚かった。

考察

我々は DTI Tractography と GFP-AAV による神経追跡法を用いて、MCAO に対する MSC 移植が、脳梗塞後に生ずる脳梁を介する大脳半球間皮質連絡の損傷を保護することを明らかにした。先行研究により、MSC 移植による治療効果の発現メカニズムは、神経栄養因子を介した神経保護作用、血液脳関門の安定化、損傷軸索の再生、再有髄化、神経可塑性の亢進などが考えられている。本研究結果より、上記に加えて、脳梗塞後の大脳半球間皮質連絡と、脳梁厚や対側大脳皮質のシナプスの保護が、MSC 移植による脳梗塞後の運動機能の回復に関与している可能性があると思われた。

結論

ラット MCAO モデルに対する MSC の経静脈的移植は、脳梁を介する大脳半球間皮質連絡の損傷から保護することが、DTI Tractography と GFP-AAV の神経解剖学的追跡法によって明らかとなった。この解剖学的な修復は、MSC 移植による脳梗塞後の運動機能の回復に関与している可能性があると考えられた。

論文審査の要旨及び担当者

平成 30 年 3 月 6 日提出

(平成 30 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 3018 号	氏 名	長 濱 宏 史
論文審査 担 当 者	主査 本望 修 教授		副査 山下 敏彦 教授
	副査 下濱 俊 教授		委員 三國 信啓 教授

論文題名	Preservation of interhemispheric cortical connections through corpus callosum following intravenous infusion of mesenchymal stem cells in a rat model of cerebral infarction (ラット脳梗塞モデルに対する骨髄間葉系幹細胞の経静脈的移植後に惹起される脳梁を介する大脳半球間皮質連絡の保護)
結果の要旨 <p>今回の研究では、DTI Tractography、Retrograde neurotracer による神経解剖学的トレーシング法、免疫組織学的解析、脳梁厚の測定によって、MCAO に対する MSC 移植が、脳梗塞後に生ずる脳梁を介する大脳半球間連絡の損傷を保護することを明らかにした。先行研究で報告されている、神経保護作用、BBB の安定化、損傷軸索再生、再有髄化、神経可塑性の亢進などの治療効果メカニズムに加えて、本研究結果により、大脳半球間皮質連絡の保護が MSC 移植による脳梗塞後の運動機能の回復に関与する可能性があると考えられた。</p> <p>上記の結果を初めて明らかにした事は博士（医学）の学位論文としてふさわしいと判断された。</p>	